

UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN METANOL
Spirulina platensis L. TERHADAP SEL WiDr



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I
pada Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi**

Oleh:

UMMU MUFLIHATI RASYIDAH

K 100 150 102

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2018**

HALAMAN PERSETUJUAN

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN METANOL
Spirulia platensis L. TERHADAP SEL WiDr**

PUBLIKASI ILMIAH

oleh:

UMMU MUFLIHATI RASYIDAH

K 100 150 102

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



Maryati, Ph.D., Apt.

NIK.871

HALAMAN PENGESAHAN

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN METANOL
Spirulina platensis L. TERHADAP SEL WiDr**

OLEH

UMMU MUFLIHATI RASYIDAH

K 100 150 102

**Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada hari Selasa, 29 Januari 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

Dewan Penguji:

- 1. Ratna Yuliani, M.Biotech.St.
(Ketua Dewan Penguji)**
- 2. Wahyu Utami, Ph.D., Apt.
(Anggota I Dewan Penguji)**
- 3. Maryati, Ph.D., Apt.
(Anggota II Dewan Penguji)**

(.....)
(.....)
(.....)

Dekan,



**Nis Endang, Ph.D., Apt.
NIK. 956**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 29 Januari 2019

Penulis



UMMU MUFLIHATI RASYIDAH

K 100 150 102

UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN METANOL *Spirulina platensis* L. TERHADAP SEL WiDr

Abstrak

Kanker kolon merupakan salah satu dari lima jenis kanker penyebab kematian utama di dunia yang berasal dari transformasi epitel usus normal polip adenomatosa dan kanker invasive. Metode pengobatan kanker saat ini seperti operasi, kemoterapi dan radioterapi umumnya mempunyai efek samping mual, muntah, rambut rontok, dan kelelahan. Sehingga perlu dikembangkan pengobatan antikanker yang lebih aman dari bahan alam. *Spirulina platensis* merupakan salah satu alga hijau biru yang dapat dikembangkan sebagai agen antikanker. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis* terhadap sel WiDr dan kandungan senyawa metabolit sekundernya. Uji sitotoksik menggunakan metode MTT- assay dengan seri konsentrasi 500; 250; 125; 62,5 dan 31,25 µg/mL. Fase gerak yang digunakan pada Kromatografi Lapis Tipis adalah etil asetat : n-heksan (7:3) dengan reagen semprot vanillin-asam sulfat, sitroborat, FeCl₃ dan Liebermann-Burchard. Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis* tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel WiDr. Ekstrak etanol *Spirulina platensis* mengandung flavonoid, steroid dan pigmen β-karoten, sedangkan ekstrak metanol mengandung terpenoid, flavonoid, fenolik, steroid dan pigmen β-karoten.

Kata Kunci: *Spirulina platensis*, sel WiDr, MTT assay.

Abstract

Colon cancer was the one of five main types of death-causing cancer in the world originating from normal intestinal epithelial transformation of adenomatous polyps and invasive cancer. Current cancer treatment such as surgery, chemotherapy and radiotherapy generally have side effects of nausea, vomiting, hair loss, and fatigue. Therefore it is necessary to develop anticancer treatments that are safer from natural ingredients. *Spirulina platensis* is one of the blue green algae that can be developed as an anticancer agent. The purpose of this study was to determine the cytotoxic effects of ethanol and methanol extract of *Spirulina platensis* on WiDr cells and their secondary metabolites. The cytotoxic tested using MTT-assay with concentration series 500; 250; 125; 62.5 and 31.25 µg/mL. The mobile phase that used in TLC assay was ethyl acetate: n-hexane (7: 3) with vanillin-sulfuric acid, sitroborat, FeCl₃ and Liebermann-Burchard as spray reagents. The result of cytotoxic test showed that ethanol and methanol extract *Spirulina platensis* did not have cytotoxic activity against WiDr cells. Ethanol extract of *Spirulina platensis* contain flavonoid, steroid and β-carotene pigments, while methanol extract contains terpenoids, flavonoids, phenolics, steroids and β-carotene pigments.

Keywords: *Spirulina platensis*, WiDr cells, MTT assay.

1. PENDAHULUAN

Pada tahun 2017 di Amerika banyak kasus kematian yang disebabkan oleh kanker kolorektal, diperkirakan ada 95.520 kanker usus besar dan 39.910 kanker rektal (American Cancer Society, 2017). Di Indonesia, kanker kolorektal menempati urutan nomor 3, dengan insiden 12,8% per 100.000 penduduk usia dewasa (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2017). Kanker kolon merupakan salah satu penyebab kematian utama di dunia yang berasal dari transformasi epitel usus normal polip adenomatosa dan kanker invasive (Palozza *et al.*, 2005). Kanker menyebabkan sel-sel dalam tubuh berubah dan tumbuh diluar kendali (American Cancer Society, 2015).

Pada saat ini terdapat empat metode pengobatan penyakit kanker yaitu operasi, kemoterapi, radioterapi, dan terapi biologi (Dipiro *et al.*, 2008). Pengobatan antikanker umumnya mempunyai efek samping seperti mual, rambut rontok dan kelelahan. Adanya efek samping dari pengobatan tersebut perlu dilakukan pengembangan pengobatan kanker yang lebih aman, salah satunya dengan pemanfaatan bahan alam sebagai agen antikanker yang berasal dari ekstrak *Spirulina platensis*.

Spirulina platensis adalah salah satu alga biru-hijau sebagai sumber bioaktivasi yang memiliki efek terapeutik pada pengobatan kanker (Lee *et al.*, 2013). Antioksidan alami dari ekstrak *Spirulina platensis* mempunyai kemampuan dalam mencegah penyakit kanker (Zaid *et al.*, 2015). Fraksi protein yang terdapat di dalam *Spirulina platensis* mempunyai aktivitas antiproliferasi yang tinggi pada sel MCF-7, HepG-2, dan SGC-7901 dengan nilai $IC_{50} < 31,25; 36,42$ dan $48,25 \mu g mL^{-1}$. Penghambatan proliferasi MCF-7 dan HepG-2 mencapai 93,43% dan 91,13% (Wang and Zhang, 2017). Penelitian lain menunjukkan bahwa filtrat protein dari *Spirulina platensis* dengan seri konsentrasi 1,25%; 2,5%; dan 5% v/v, pada konsentrasi tertinggi memberikan efek antikanker dan antiproliferatif terhadap sel kanker usus Caco-2 (Smieszek *et al.*, 2017). Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas sitotoksik ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis* terhadap sel WiDr.

2. METODE

2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *rotary evaporator* (Laborata 4000 Heidolph E-wB eco), timbangan analitik (Ohaus), corong buchner, *waterbath* (Memmert), *Laminar Air Flow* (ESCO), inkubator CO₂ (Binder), mikropipet (Socorex), pipet Pasteur, lampu UV 254 nm dan UV 366 nm *hemocytometer* (Neubauer), *vortex* (Thermolyne Corporation, tipe Maxi Mix II 37600) mikroskop (Olympus CKX41), *ELISA reader* (Biotek ELX 800), dan *handtally counter* (Kenko, model HT-302).

2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroalga *Spirulina platensis* dari budidaya PT. Neoalgae Indonesia Makmur Sukoharjo, etanol 96%, metanol, sel WiDr yang diperoleh dari Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, media kultur Rosewell Park Memorial Intitue (RPMI) 1640 (Gibcobl), *96 well plate*, *conical tube*, *tissue culture flask*, *microtube*, *blue tip*, *yellow tip*, DMSO, 3-(4,5dimetiltiazol-2-il) difenil tetrazolium bromida (MTT), *Phosphate Buffered Saline* (PBS), *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10 % v/v, antibiotik penisilin-streptomisin 2%, *Sodium Dodecyl Sulphate* (SDS) 10% dalam 0,01 N HCl (larutan *stopper*), Aluminium foil, dan tripsin EDTA (tripsin 0,25%).

2.3 Ekstraksi *Spirulina platensis*

Serbuk *Spirulina platensis* ditimbang sebanyak 250 gram, diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dan metanol sebanyak 1,875 L, didiamkan pada suhu ruang selama 3x24 jam dengan sesekali diaduk. Maserat yang dihasilkan diuapkan dengan *rotary evaporator*, kemudian ekstrak hasil evaporasi diletakkan di atas *waterbath* hingga terbentuk ekstrak kental.

2.4 Pembuatan Media Kultur Sel

Media kultur dibuat dengan mencampurkan 2 mL antibiotik penisilin-streptomisin yang telah dicairkan pada suhu kamar dan 20 mL FBS 10%, ditambahkan 1 mL fungizon 0,5% yang berfungsi sebagai antijamur dan 200 mL medium RPMI 1640 murni (proses pembuatan dilakukan di LAF), kemudian disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C.

2.5 Kultur Sel WiDr

Sel WiDr dikultur dalam media RPMI yang mengandung 10% FBS, 2% penisilin-streptomisin, dan 1% fungizon. Perlakuan dilakukan didalam LAF. Sel diinkubasi pada suhu 37°C di inkubator CO₂ dan disubkultur setiap 3-4 hari.

2.5 Pemanenan Sel WiDr

Panen sel dilakukan setelah sel WiDr konfluen 80%, media dibuang dan sel dicuci dengan PBS sebanyak 5 mL kemudian diresuspensi secara perlahan. Selanjutnya, ditambahkan larutan tripsin-EDTA 0,25% sebanyak 450 µL dan diinkubasi selama 5 menit. Larutan tripsin EDTA berfungsi untuk melepaskan sel dari dindingnya atau untuk memecah sel yang masih menggerombol. Media 6 mL ditambahkan untuk menginaktifkan tripsin. Sel diresuspensi dan diamati menggunakan mikroskop untuk memastikan sel telah terlepas satu-satu dan dipindahkan ke dalam *conical tube* yang baru. Selanjutnya dilakukan perhitungan sel dengan cara sel diambil 10 µL dan dipipetkan pada hemositometer didapatkan jumlah sel yang ditrasfer per mL yaitu $255,25 \times 10^4$ dan jumlah sel yang ditrasfer dalam *96 well plate* adalah 392 µL.

2.6 Uji Sitotoksik Dengan Metode MTT assay

Sel WiDr dengan kepadatan 1×10^4 sel/sumuran didistribusikan ke dalam *96-well plate* sumuran dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C agar beradaptasi dan menempel di dasar sumuran. Pada setiap sumuran diisi 100 μL , kecuali pada tiga sumuran yang digunakan sebagai kontrol media. Kondisi sel diamati di bawah mikroskop. Setelah 24 jam, media tidak dibuang kemudian diberi perlakuan dengan menambahkan seri konsentrasi ekstrak etanol *Spirulina platensis* (31,25; 62,5; 125; 250; dan 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) pada sumuran setiap seri konsentrasi 3 sumuran (triplo). Kontrol sel dan kontrol media diisi media 100 μL . Kontrol pelarut diisi DMSO. Setelah itu, *96-well plate* diinkubasi di dalam inkubator CO_2 selama 48 jam pada suhu 37°C . Pada akhir inkubasi, media sel dibuang dengan cara membalikkan plate 180° di atas tempat buangan dengan jarak 15 cm. Sisa media sel ditiriskan diatas tisu secara perlahan, masing-masing sumuran ditambahkan reagen MTT 100 μL dan diinkubasi selama 2 jam. Selanjutnya, tiap sumuran ditambahkan larutan *stopper* 100 μL SDS 10% dalam HCl 0,01 N. Kemudian *96-well plate* tersebut dibungkus dengan aluminium foil dan diinkubasi di dalam lemari kedap cahaya selama semalam pada suhu ruang. Absorbansi dari *96-well plate* dibaca dengan alat ELISA reader pada λ 550 nm. Data hasil absorbansi digunakan untuk menghitung persentase jumlah sel yang masih hidup. Regresi linier dihitung dengan menghubungkan antara log konsentrasi dengan persentase sel hidup sehingga diperoleh persamaan $y=bx+a$. Nilai IC_{50} diperoleh dengan memasukkan angka 50 pada y hasilnya berupa antilog x. Rumus untuk menghitung persentase sel hidup :

$$\% \text{ Sel hidup} = \frac{(\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media})}{(\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{Absorbansi kontrol media})} \times 100\%$$

2.7 Uji Kandungan Senyawa

Ekstrak kental *Spirulina platensis* dilarutkan dalam etanol sampai 1 mL. Fase diam yang digunakan Silica gel GF₂₅₄ dengan jarak elusi 8 cm. Fase gerak yang digunakan yaitu etil asetat : heksan (7:3) sebanyak 10 mL. Senyawa yang sudah terelusi diamati di sinar UV 254 dan 366 nm, kemudian disemprot dengan pereaksi sitroborat, FeCl_3 , vanilin-asam sulfat dan Liebermann-Burchard.

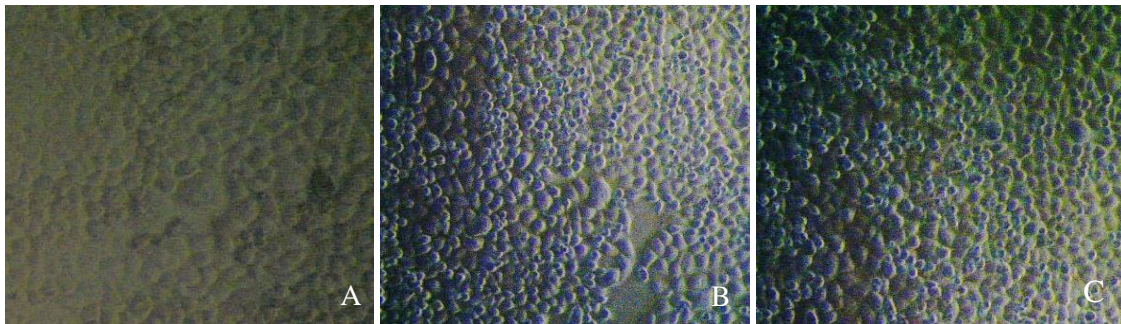
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Uji Sitotoksik Terhadap Sel WiDr

Serbuk *Spirulina platensis* ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dan metanol. Sampel sebanyak 250 gram direndam dalam etanol 96% dan 250 gram dalam metanol selama 3 hari. Ekstrak kental etanol *Spirulina platensis* yang diperoleh 5,9 g dan rendemen yang didapatkan 2,36%. Ekstrak kental metanol *Spirulina platensis* diperoleh 14,96 g dan rendemen yang didapatkan 5,98%. Jenis pelarut pengestraksi mempengaruhi jumlah senyawa aktif yang terekstrak, ini sesuai dengan prinsip *like dissolves like* yaitu senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut

polar dan senyawa yang bersifat nonpolar akan larut dalam pelarut non polar (Arifianti *et al.*, 2014). Hasil ekstrak kental yang diperoleh sangat berbeda karena perbedaan sifat dari kedua pelarut yaitu metanol lebih polar dari pada etanol, sehingga senyawa aktif pada *Spirulina platensis* yang tersari yaitu protein lebih larut pada pelarut metanol. Metanol kepolarannya lebih mendekati kepolaran air dibandingkan dengan etanol.

Uji sitotoksik ekstrak etanol *Spirulina platensis* menggunakan metode MTT-assay (3-(4,5dimetiltiazol-2-il) difenil tetrazolium bromida). Prinsip kerja metode ini adalah garam tetrazolium dipecah oleh dehidrogenase mitokondria dalam sel-sel aktif metabolik dan direduksi menjadi kristal formazan yang tidak larut, menjadi warna ungu (Jo *et al.*, 2015). Reagen stopper digunakan untuk menghentikan reaksi warna kristal formazan pada sel. Semakin besar intensitas warna ungu maka jumlah sel hidup semakin banyak (Meiyanto, 2013). Dari hasil penelitian intensitas warna ungu masih besar sehingga jumlah sel hidup masih banyak. Morfologi dari sel WiDr (Gambar 1) berbentuk oval dan bergerombol.



Gambar 1. Morfologi sel WiDr: kontrol sel WiDr (a), sel WiDr yang telah diberi perlakuan ekstrak etanol *Spirulina platensis* konsentrasi 500 µg/mL (b), dan sel WiDr yang telah diberi perlakuan ekstrak metanol *Spirulina platensis* konsentrasi 500 µg/mL (c).

DMSO digunakan sebagai pelarut untuk melarutkan ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis*. Dimetil sulfoksida (DMSO) merupakan senyawa aprotik polar yang mampu melarutkan sejumlah senyawa polar dan nonpolar yang lemah, oleh karena itu dianggap sebagai pelarut yang efisien untuk senyawa yang tidak larut air dalam media uji biologis (Kang *et al.*, 2017). Inkubator CO₂ dalam penelitian berfungsi untuk pertumbuhan dan pemeliharaan kultur sel dengan mempertahankan suhu optimal, kelembaban dan kondisi lain seperti kandungan karbondioksida dan oksigen dari atmosfer.

Tabel 1. Data persentase sel WiDr hidup setelah diberi perlakuan ekstrak etanol *Spirulina platensis*

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Persentase sel hidup (%)				SD
	1	2	3	Rata-rata	
31,25	105,11	98,68	93,81	99,20	5,67
62,5	95,08	100,93	97,42	97,81	2,94
125	97,22	98,10	91,57	95,63	3,54
250	94,30	92,84	93,91	93,68	0,76
500	84,75	95,96	95,37	92,03	6,31

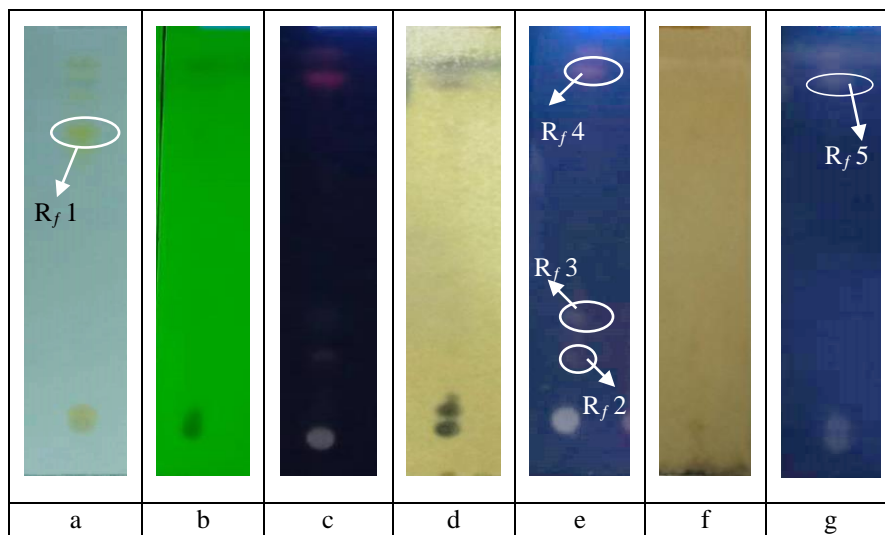
Tabel 2. Data persentase sel WiDr hidup setelah diberi perlakuan ekstrak metanol *Spirulina platensis*

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Persentase sel hidup (%)				SD
	1	2	3	Rata-rata	
31,25	94,40	93,81	94,59	94,27	0,41
62,5	102,29	101,70	99,17	101,06	1,65
125	96,05	93,62	95,96	95,21	1,38
250	103,56	102,09	94,69	100,11	4,75
500	104,34	110,67	99,95	104,98	5,39

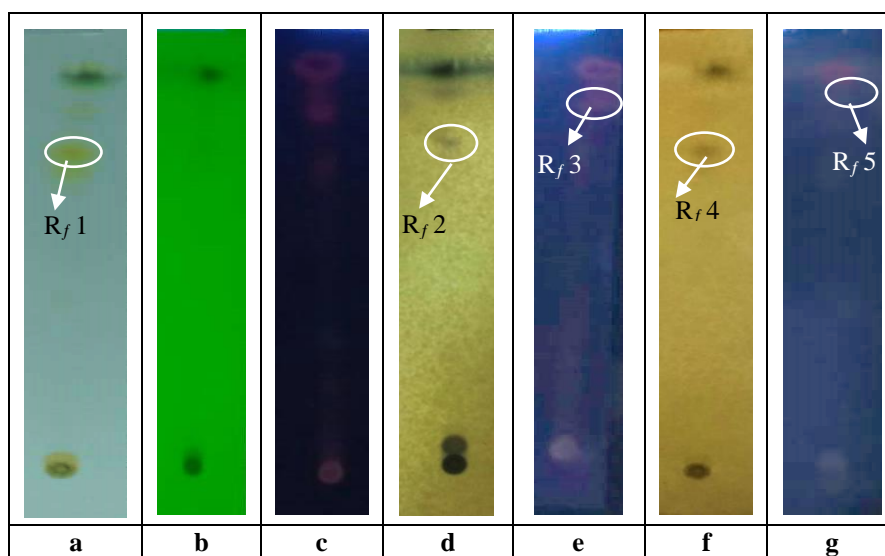
Hasil dari data persentase sel WiDr hidup setelah diberi perlakuan ekstrak etanol (Tabel 1) dan metanol (Tabel 2) menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak etanol dan metanol tidak menyebabkan penurunan persentase sel hidup. Pada ekstrak etanol *Spirulina platensis* konsentrasi tertinggi (500 $\mu\text{g/mL}$), persentase sel hidup yang diperoleh sebesar 92,03% dan persentase penghambatan selnya hanya 7,97% (Tabel 1), sedangkan pada ekstrak metanol *Spirulina platensis* persentase sel hidup pada konsentrasi tertinggi (500 $\mu\text{g/mL}$) sebesar 104,98% dan tidak terjadi penghambatan pada sel (Tabel 2). Persentase sel WiDr yang masih hidup pada ekstrak metanol mengalami naik turun dikarenakan respon sel WiDr dari setiap sumuran setelah diberi perlakuan berbeda-beda. Nilai IC_{50} tidak dapat dihitung. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis* tidak mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel WiDr. Hal itu dapat disebabkan mungkin senyawa yang berpotensi sebagai agen antikanker adalah senyawa protein. Pada penelitian ini protein yang tersari dengan etanol maupun metanol dalam jumlah yang sedikit. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa fraksi protein dari *Spirulina platensis* mempunyai aktifitas antiproliferasi tinggi pada sel MCF-7, HepG-2, dan SGC-7901 dengan nilai $\text{IC}_{50} < 31,25; 36,42$ dan $48,25 \mu\text{g/mL}$ (Wang and Zhang, 2017). Penelitian lain juga menyebutkan bahwa filtrat protein *Spirulina platensis* mempunyai efek sitotoksik yang signifikan dalam mengurangi jumlah koloni sel kanker Caco-2 (Smieszek *et al.*, 2017). Selain itu, tidak adanya aktivitas sitotoksik ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis* disebabkan pigmen β -karoten atau pigmen karotenoid yang termasuk golongan senyawa metabolit sekunder jenis terpenoid yang tersari hanya sedikit.

3.2 Uji Kandungan Senyawa

Kandungan senyawa ekstrak kental etanol dan metanol *Spirulina platensis* diuji dengan metode kromatografi lapis tipis. Kromatografi lapis tipis dapat digunakan untuk mendeteksi kandungan senyawa sekaligus dapat memisahkannya dan dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa murni (Baharum *et al.*, 2016). Pengamatan hasil bercak ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis* diamati dengan sinar tampak, UV 254 nm dan UV 366 nm.



Gambar 2. Profil KLT ekstrak etanol *Spirulina platensis* dengan fase gerak etil asetat : n-heksana (7:3), fase diam silica gel GF₂₅₄ dengan jarak elusi 8 cm, sebelum diberi pereaksi semprot pada sinar tampak (a), UV 254 nm (b), UV 366 nm (c), setelah diberi pereaksi vanillin-asam sulfat pada sinar tampak (d), sitroborat pada UV366 nm (e), FeCl₃ pada sinar tampak (f) Liebermann-Burchard pada UV 366 nm (g).



Gambar 3. Profil KLT ekstrak metanol *Spirulina platensis* dengan fase gerak etil asetat : n-heksana (7:3), fase diam silica gel GF₂₅₄ dengan jarak elusi 8 cm, sebelum diberi pereaksi semprot pada sinar tampak (a), UV 254 nm (b), UV 366 nm (c), setelah diberi pereaksi vanillin-asam sulfat pada sinar tampak (d), sitroborat pada UV366 nm (e), FeCl₃ pada sinar tampak (f) Liebermann-Burchard pada UV 366 nm (g).

Tabel 3. Hasil deteksi senyawa ekstrak etanol *Spirulina platensis*

Bercak	R _f	Sinar tampak	Vanillin-asam sulfat	Sitroborat	FeCl ₃	Liebermann-Burchard	Senyawa
1	0,71	Kuning	-	-	-	-	β-karoten
2	0,29		-	Hijau	-		Flavonoid
3	0,41		-	Hijau	-	-	Flavonoid
4	0,9		-	Hijau	-	-	Flavonoid
5	0,9		-	-	-	Kuning jingga	Steroid

Tabel 4. Hasil deteksi senyawa ekstrak metanol *Spirulina platensis*

Bercak	R _f	Sinar tampak	Vanillin-asam sulfat	Sitroborat	FeCl ₃	Liebermann-Burchard	Senyawa
1	0,71	Kuning	-	-	-	-	β-karoten
2	0,8	-	Kuning kecoklatan	-	-	-	Terpenoid
3	0,9	-	-	Hijau	-	-	Flavonoid
4	0,76	-	-		Hijau	-	Fenolik
5	0,9	-	-	-	-	Kuning jingga	Steroid

Hasil identifikasi kandungan senyawa pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol (Gambar 2 dan Tabel 3) *Spirulina platensis* mengandung senyawa flavonoid, steroid dan pigmen β-karoten sedangkan ekstrak metanol (Gambar 3 dan Tabel 4) mengandung senyawa terpenoid, flavonoid, fenolik, steroid dan pigmen β-karoten. Setelah dielusi dengan pengamatan sinar tampak terlihat bercak warna kuning dengan R_f 0,71 pada ekstrak etanol (Gambar 2a) dan metanol (Gambar 3a) diplat menunjukkan adanya kandungan pigmen β-karoten dengan R_f 0,71. Penelitian sebelumnya terhadap ekstrak metanol *Spirulina platensis* dengan fase gerak aseton : heksana (7,5:2,5) dengan R_f 0,7 menunjukkan adanya kandungan pigmen β-karoten (Laguna *et al.*, 2015). Pengamatan dibawah sinar UV 254 nm sebelum disemprot menunjukkan pemadaman bercak dan plat KLT berfluoresensi, sedangkan pada UV 366 nm menunjukkan bercak berfluoresensi dan terjadi pemadaman pada plat KLT. Pada penelitian, pereaksi semprot vanillin-asam sulfat digunakan untuk mendeteksi golongan senyawa terpenoid yang akan menghasilkan warna-warna ungu, kuning coklat, hitam pada sinar tampak (Saifudin, 2014). Setelah disemprot dengan vanillin-asam sulfat, tidak terlihat adanya bercak dari ekstrak etanol ini menunjukkan tidak ada kandungan senyawa terpenoid (Gambar 2d) dan untuk ekstrak metanol terlihat ada bercak berwarna kuning kecoklatan dengan nilai R_f 0,8 menunjukkan adanya kandungan senyawa terpenoid (Gambar 3d). Mekanisme reaksi senyawa terpenoid yaitu vanilillin memperpanjang rantai terkonjugasi dari senyawa terpenoid.

Kandungan senyawa flavonoid dapat dideteksi dengan reagen semprot sitroborat. Adanya bercak berwarna kuning-hijau dibawah sinar UV 366 nm menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Harborne, 1996). Hasil KLT ekstrak etanol dengan nilai R_f 0,29; 0,41; 0,9 (Gambar 2e) dan metanol dengan nilai R_f 0,9 (Gambar 3e) menunjukkan fluoresensi warna hijau tipis pada UV 366 nm. Deteksi senyawa fenolik dilakukan dengan pereaksi semprot $FeCl_3$ tidak menunjukkan warna hijau pada plat setelah diamati disinari tampak untuk ekstrak etanol (Gambar 2f) dan pada ekstrak metanol terdapat bercak berwarna hijau tipis dengan nilai R_f 0,76 (Gambar 3f). Adanya bercak berwarna hijau menunjukkan adanya senyawa polifenol (Harborne, 1996). Selain itu juga dilakukan deteksi dengan Liebermann-Burchard untuk mengetahui kandungan senyawa steroid yang menunjukkan adanya warna kuning jingga, pada penelitian menunjukkan adanya bercak berwarna kuning jingga pada ekstrak etanol nilai R_f 0,9 (Gambar 2g) dan metanol dengan nilai R_f 0,9 (Gambar 3g). Pada penelitian sebelumnya belum ada yang melakukan pengujian kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada *Spirulina platensis*.

4. PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian pada uji sitotoksik dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis* tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel WiDr ditunjukkan pada konsentrasi tertinggi 500 μ g/mL ekstrak etanol hanya mampu menghambat pertumbuhan sel 7,79 % dan ekstrak metanol tidak terjadi penghambatan. Kandungan senyawa pada ekstrak etanol *Spirulina platensis* adalah flavonoid, steroid dan pigmen β -karoten, sedangkan pada ekstrak metanol mengandung senyawa terpenoid, flavonoid, fenolik, steroid dan pigmen β -karoten.

DAFTAR PUSTAKA

- American Cancer Society, *Breast Cancer Facts & Figures 2015-2016*, American Cancer Society, USA.
- American Cancer Society, *Breast Cancer Facts & Figures 2017-2018*, American Cancer Society, USA.
- Arifianti L., Oktarina R.D., Kusumawati I., 2014, Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinestetin Dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Beth, *E-Journal Planta Husada*, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, 2 (1), 3–6.
- Baharum Z., Akim A., Taufiq-yap Y.H., Hamid R.A. and Kasran R., 2016, Review of the Extraction, Isolation and Bioassay of Its Potential Anti-cancer Compounds, *Tropical Life Sciences Research*, 27 (1), 21–42.
- CCRC UGM, 2009, Prosedur tetap Uji Sitotoksik Metode MTT, *Cancer Chemoprevention Research Center Farmasi UGM Yogyakarta*, 6–9.
- Dipiro J.T., Talbert R.L., Yee G.C., Weels B.G. and Posey M.L., 2008, *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*, 7th ed., The McGraw-Hill Companies, Inc, New York, pp. 2156-2158.

- Harborne, J.B. 1996, *Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Institut Teknologi Bandung Press, Bandung.
- Jo H.Y., Kim Y., Park H.W., Moon H.E., Bae S., Kim J., Kim D.G. and Paek S.H., 2015, The Unreliability of MTT Assay in the Cytotoxic Test of Primary Cultured Glioblastoma Cells, *Experimental Neurobiology*, 24 (3), 235-245.
- Kang M., Das J., Gurunathan S., Park H., Song H., Park C. and Kim J., 2017, Theranostics The cytotoxic effects of dimethyl sulfoxide in mouse preimplantation embryos : a mechanistic study, 7 (19), doi: 10.7150/thno.21662.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2017, *Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Kanker Kolorektal*, Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Laguna I.H.B., Marante F.J.T., Luna-Freire K.R. Mioso R., 2015, Extraction of nutraceuticals from *Spirulina* (blue-green alga): A bioorganic chemistry practice using thin-layer chromatography, *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 43(5), 366–369. doi: 10.1002/bmb.20882.
- Lee J.C., Hou M.F., Huang H.W., Chang F.R., Yeh C.C. and Tang J.Y., 2013, Marine Algal Natural Products Anti-oxidative, Anti-Inflammatory, and Anti Cancer Properties, *Bio Med Central*, 13 (3), 1–7. Terdapat di: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3674937/>.
- Meiyanto E., 2013, *Protokol Uji Sitotoksik Metode MTT*, Cancer Chemoprevention Research Center Farmasi UGM Yogyakarta.
- Palozza P., Serini S., Maggiano N., Tringali G., Navarra P., Ranelletti F.O. and Calviello G., 2005, Beta-Carotene downregulates the steady-state and heregulin-alpha-induced COX-2 pathways in colon cancer cells., *The Journal of nutrition*, 135 (1), 129–136.
- Saifudin, A., 2014, *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep dan Teknik Pemurnian*, Deepublish, Yogyakarta.
- Smieszek A., Giezek E., Chrapiec M., Murat M., Mucha A., Michalak I. and Marycz K., 2017, The influence of *Spirulina platensis* filtrates on caco-2 proliferative activity and expression of apoptosis-related microRNAs and mRNA, *Marine Drugs*, 15 (3)
- Wang Z. and Zhang X., 2017, Isolation and identification of anti-proliferative peptides from *Spirulina platensis* using three-step hydrolysis, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97 (3), 918–922.
- Zaid A.A.A., Hammad D.M. and Sharaf E.M., 2015, Antioxidant and Anticancer Activity of *Spirulina platensis* Water Extract, *International Journal of Pharmacology*, 11 (7), 846–851. Terdapat di: <http://dx.doi.org/10.3923/ijp.2015.846.851>.